

**Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
Науково-дослідний інститут реабілітації осіб з інвалідністю
Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна**



**Оцінка про- та антикоагулянтних факторів
гемостазу і параметрів згортаючого
потенціалу при розвитку коморбідних
станів у хворих на ХХН VД стадії**

Методичні рекомендації

Вінниця 2019

Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
Науково-дослідний інститут реабілітації осіб з інвалідністю
Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна

ЗАТВЕРДЖУЮ

Начальник відділу експертизи
тимчасової та стійкої втрати
працездатності Управління медико-
соціальної допомоги населенню МОЗ
України



Черняк С.І.

16 листопада 2018 р.

**Оцінка про- та антикоагулянтних факторів гемостазу
і параметрів згортаючого потенціалу при розвитку
коморбідних станів у хворих на ХХН VД стадії**

Методичні рекомендації

Вінниця 2019

Установа-розробник:

НДІ реабілітації осіб з інвалідністю ВНМУ ім. М.І. Пирогова,

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Автори: НДІ реабілітації інвалідів
ВНМУ ім. М.І. Пирогова,

Л. О. Сторожук, к.м.н., ст.н.сп.

Б. Г Сторожук, д.м.н., проф.

І. Б. Селезньова, к.м.н.

О. Б. Сторожук, ас.

Т. В. Довгалюк

Інститут біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України

Т. М. Платонова, д.біол.н.

Рецензент: Керівник відділу ефективних технологій Державної установи
«Інститут нефрології Національної академії медичних наук»,
д.м.н., проф. Дудар Ірина Олексіївна.

Методичні рекомендації містять оцінку про- та антикоагулянтних факторів гемостазу і параметрів згортаючого потенціалу при різних коморбідних станах та синдромах у хворих на ХХН VД стадії, які лікуються програмним гемодіалізом, а також критерії для скринінгу хворих і методи сучасних лабораторних досліджень.

ЗМІСТ

	Стор.
Вступ.....	5
Розділ 1. Лабораторна діагностика тромбофілій.....	8
Розділ 2. Вплив деяких коморбідних станів та синдромів на показники гемостазу у хворих ХХН VД стадії.....	26
2.1. Стан показників гемостазу у хворих ХХН VД стадії в умовах гострого запалення.....	26
2.2. Вплив вторинного гіперпаратиреозу та порушень фосфорно-кальцієвого метаболізму на показники гемостазу у хворих ХХН VД стадії	29
2.3. Інфікованість хворих ХХН VД стадії, які перебувають на програмному гемодіалізі, вірусами гепатиту В і С та їхній вплив на деякі показники гемостазу.....	33
2.4. Стан про- та антикоагуляційної ланок гемостазу у хворих ХХН VД стадії в залежності від залишкової функції нирок.....	35
Рекомендації.....	38
Список літератури.....	39

Перелік умовних скорочень

АДФ – аденозиндифосфат
 АТ – артеріальний тиск
 АФА – антифосфоліпідні антитіла
 АЧ – анцистроновий час
 АЧТЧ – активований тромбопластиновий час
 ВГПТ – вторинний гіперпаратиреоз
 ГГЦ – гіпергомоцистеїнемія
 Д-д – Д-димер
 ЕЧ – екамуліновий час
 ЗГП – загально-гемостатичний потенціал
 ЗП – згортаючий потенціал
 ЗФН – залишкова функція нирок
 ЕІ – екамуліновий індекс
 МІЧ – Міжнародний індекс чутливості тромбопластину
 о.о./с – оптичні одиниці поглинання світла за секунду
 ПАІ-1 – інгібітор активатора плазміногену першого типу
 ПГ – паратгормон
 ПІ – протромбіновий індекс
 Пм – плазмін
 ПЧ – протромбіновий час
 РАПС – резистентність до активованого протеїну-С
 рС – протеїн С
 рФ – розчинний фібрин
 РФМК – розчинний фібринмономерний комплекс
 СРБ – С реактивний білок
 ТАП – тканинний фактор плазміногену
 ТЧ – тромбіновий час
 ФНФП – функціонально неактивні форми протромбіну
 ХХН – хронічна хвороба нирок
 ф. V, VII, VIII, IX, X, XII, XIII – фактори згортання крові (Ха - активовані)
 Фг – фібриноген
 ФП – фібринолітичний потенціал
 ХХН VД ст. – хронічна хвороба нирок у хворих, що перебувають на діалізі
 Нв – гемоглобін
 Н – максимальна мутність згустку
 Но – початкова мутність плазми
 ІЛ – інтерлейкін
 L – час напівруйнування згустку
 n.s. – відсутність кореляційних зв'язків
 Ca⁺⁺ – кальцій
 Na⁺ - натрій
 K⁺ – калій
 Р – в фосфор
 Т – час існування згустку
 t – лаг період згортання плазми

Вступ

Розповсюдженість і захворюваність на ХХН, в тому числі і в пізні стадії хвороби, в даний час в стрімко зростають (Довідник ДЗ «Центр медичної статистики МОЗ України». – К., 2015). Значущість нефрологічної патології визначається важкістю хвороб нирок, обмеженням життєдіяльності та швидкістю інвалідації в молодому працездатному віці.

Клінічні дані свідчать, що одним із важливих механізмів в патогенезі ускладнень при нирковій патології є порушення в системі гемостазу, які призводять до розвитку різних тромбофілій (тромбоз судинного доступу, тромбоз глибоких вен, цереброваскулярні та коронарні порушення та ін.).

Термінальна стадія ХХН є важливим чинником коморбідності, надто у хворих, що лікуються програмним гемодіалізом [14, 15, 16]. Коморбідність, як поєднання та співіснування декількох захворювань та синдромів, що, як правило, тісно пов'язані між собою, значно погіршує прогноз у даної категорії хворих [14, 17, 18, 19]. Як свідчать літературні дані, серед коморбідних станів найпоширенішими є анемія, артеріальна гіпертензія, серцево-судинні та цереброваскулярні захворювання, вторинний гіперпаратиреоз, цукровий діабет, вірусні гепатити, синдром хронічного запалення тощо [14, 20, 21, 22]. Доведено, що існує залежність індексу коморбідності від стажу перебування на гемодіалізі, який збільшується пропорційно терміну [14]. Показники коморбідності у хворих ХХН VД ст. складають від трьох до чотирьох захворювань на одного хворого, а за структурою найбільш частими є пов'язані між собою, які належать до «ускладнених коморбідних захворювань» [14]. Анемія, як уже зазначалось, є найбільш поширеним коморбідним станом і зустрічається у майже 90% пацієнтів цієї групи, випереджаючи артеріальну гіпертензію [23]. Одним із основних патогенетичних механізмів розвитку анемії є високий рівень цитокінів, які пригнічують еритропоетичну функцію червоного ростку кісткового мозку та блокують метаболізм заліза в ретикулоендотеліальній системі і, як наслідок, призводять до зниження рівня гемоглобіну з розвитком хронічної гіпоксії [21]. Анемія також тісно пов'язана з

синдромом MIA (malnutrition inflammation-atherosclerosis), підвищенням загальної захворюваності та смертності [21]. За результатами багатьох досліджень, однією з основних причин смерті хворих з ХХН VД ст. є кардіоваскулярні захворювання [20, 22, 24]. Останні спричинені порушеннями структурно-функціонального стану серця внаслідок рено-кардіального синдрому [20, 25, 26]. Доведено, що структурно-функціональні та гемодинамічні показники роботи серця залежать від тривалості оліго-анурії, залишкової функції нирок, хронічного запалення, наявності вторинного гіперпаратиреозу [14, 15, 17, 27, 28]. Так, кальцифікація клапанів серця посідає значне місце у погіршенні стану та смертності пацієнтів і зустрічається більше ніж у 80% хворих, при цьому має місце ураження як аортального, так і мітрального клапанів [22, 29, 24, 30]. Встановлено, що у даній категорії хворих патологія клапанного апарату серця залежить від віку хворого, гемодіалізного стажу та гемодинамічних факторів (гіперволемія, анемія, артеріо-венозний шунт, артеріальна гіпертензія) [22]. Так, зв'язок артеріальної гіпертензії з клапанною патологією відмічається в ряді наукових робіт та пояснюється терміном перевантаження при систолічній гіпертензії [22, 29]. Не останню роль у процесі клапанної кальцифікації відіграє також порушення фосфорно-кальцієвого обміну та підвищення рівня паратгормону [22, 30, 31, 32, 33, 34]. Багаторічний аналіз ко – та поліморбідності у хворих з ХХН VД стадії в роботах вітчизняних науковців показав, що поліморбідність знижує однорічну та п'ятирічну виживаємість хворих [14, 15,]. В цих же дослідженнях доведено, що загальна доля хворих, що вижили, на гемодіалізі з ішемічною хворобою серця впродовж десятиріччя становить лише 28% і вдвічі нижча ніж у хворих без ішемічної хвороби [14]. Незалежним предиктором виживання хворих ХХН VД стадії за результатами багатофакторного аналізу є рівень фосфору плазми, сумарний індекс коморбідності та міждіалізна гіпергідратація [14]. Незаперечним є і той факт, що ХХН провокує стан гіперкоагуляції за рахунок виснаження антикоагулянтних та фібринолітичних властивостей плазми крові. Гіперкоагуляція, як коморбідний синдром, посилює морфологічні зміни в нирках, судинах, сприяє відкладенню фібрину у клубочках та сприяє судинним

тромбозам [1, 13, 12]. Тромбози при ХХН стосуються порушень у всіх ланках гемостазу. Так, відомо, що у цих хворих різко зростає агрегація тромбоцитів, підвищується рівень фібриногену і XIII фактору згортання та збільшується дефіцит антитромбіну III [5]. Стосовно хворих, у яких ХХН виникла в результаті гломерулярних уражень, то необхідно враховувати в патогенезі розвитку гіперкоагуляції ще й наявність хронічного (автоімунного) запалення, що має прокоагуляційну дію та сприяє мікротромбоутворенню [1, 11]. Доведено, що процес гемодіалізу сприяє синдрому хронічного запалення та підвищенню рівня прозапальних цитокінів, концентрація яких залежить від багатьох факторів (імунного, інфекційного, токсичного тощо) [1, 21, 35]. У свою чергу, прозапальні цитокіни впливають на прогресування інших коморбідних станів. Так, встановлено, що рівень гемоглобіну крові, патологія серцево-судинної системи, ендотоксемії асоціюються з концентрацією деяких прозапальних інтерлейкінів (IL-1, IL-17, IL-18) [10, 36]. Відомо, що їхній рівень значно зростає при посиленні ендотоксемії за рахунок коморбідності з вірусними гепатитами. Таким чином, як свідчать дані літератури, структура коморбідності вивчена досить добре, як і її вплив на перебіг основного захворювання. Разом з тим, показники гемостазу у хворих ХХН VД ст. при деяких коморбідних станах потребують додаткового вивчення та детального аналізу, що дасть можливість прогнозувати такі важкі ускладнення, як тромбоз.

Розділ 1. Лабораторна діагностика тромбофілій

Для виявлення тромбофілічного стану не існує єдиного інформативного лабораторного діагностичного тесту. Тому діагностика стану гемостазу повинна базуватися на комплексному аналізі показників, що сприяють з'ясуванню механізмів тромбоутворення при даній патології і є маркерами активації системи зсідання крові. За наявності відповідної клінічної ситуації та симптомів тромбофілії, виявлення сукупності хоча б чотирьох-п'яти із основних та додаткових лабораторних ознак повинно розглядатися як підтвердження діагнозу та слугувати основою для проведення необхідної патогенетичної терапії.

Лабораторні тести, які застосовуються для діагностики тромбофілій можна розділити на:

- *Тести для оцінки стану системи гемостазу* – дозволяють виявити порушення рівноваги між окремими ланками системи гемостазу, з'ясувати ризик тромбозу на момент дослідження, вирішити питання щодо призначення антикоагулянтів. Ця група тестів не дозволяє встановити причину тромбофілії, а лише спрямовує її пошук.
- *Тести для виявлення причин тромбофілії.*

Ці тести дозволяють визначити причину тромбофілії, але не дають уявлення стосовно ризику тромбозу на момент дослідження. В цю групи можна віднести:

- *Антигенні тести* – дозволяють визначити концентрацію факторів системи гемостазу речовини (імунохімічні, радіоіммунні та ін. методи);
- *Молекулярно-генетичні тести* – дозволяють виявити мутації генів та провести експресійний аналіз окремих генних продуктів (методом ПЛР).
- *Тести для оцінки стану системи гемостазу при тромбофілії.*

В цій групі виділяють попередні скринінгові тести, які відображають послідовність активації компонентів системи гемостазу (час кровотечі, протромбіновий час (ПЧ), активований тромбопластиновий час (АЧТЧ),

визначення вмісту фібриногену та величини гематокриту, лізис еуглобулінової фракції). Діагностична значимість цих тестів визначається тим, що виявлені порушення дозволяють конкретизувати напрямок пошуку порушеної ланки гемостазу (табл. 1.1).

Таблиця 1.1. Скринінгові тести для аналізу стану системи гемостазу

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
АЧТЧ (Активований частковий тромбoplastиний час) N – 27-45 с	Характеристика процесу активації факторів внутрішнього шляху зсідання. Виявлення порушення рівноваги між про- та антикоагулянтами
ПЧ (Протромбіновий час) N – 13-18 с	Характеристика процесу активації факторів зовнішнього шляху зсідання крові
ПІ (Протромбіновий індекс) $PI = \frac{PT}{PTN}$ (порогового) / ПЧ (пацієнта) N – 100-105%	Характеристика порушень рівноваги між про- та антикоагулянтами
ТЧ (Тромбіновий час) N – 15-25 с	Характеристика кінцевого етапу зсідання крові (перетворення фібриногену в фібрин)
Вміст фібриногену N – 1,8-3,0 г/л	Виявлення гіпо- та гіперфібриногенемії
Загальна фібринолітична активність плазми крові N – 150 – 300 хв	Характеристика фібринолітичного потенціалу

Маркери активації тромбоутворення:

- Ранні маркери активації тромбіну – фрагменти протромбіну F1+2 та комплекси тромбін-антитромбін (ТАТ).
- Маркери, які характеризують ступінь активації системи зсідання крові - фібрин-мономери (РФМК) та фібринопептид А.
- Пізні маркери, які з'являються після утворення фібрину – D-димер. D-димер є маркером як фібриноутворення, так і фібринолітичної активності.

Маркери активації мають різний період напіввиведення з системи циркуляції:

- Фібринопептид А – 3-5 хвилин;
- ТАТ – 15 хвилин;
- F 1+2 – 90 хвилин;

➤ РФМК та D-димери – декілька годин.

Діагностична значимість цих тестів визначається тим, що виявлені порушення дозволяють визначити ризик тромбозу на момент дослідження та обрати тактику лікування та проконтролювати його ефективність (табл. 1.2).

Таблиця 1.2. Лабораторні тести для оцінки ризику та діагностики тромбозу

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
Розчинні фібрин-мономерні комплекси (РФМК)	Маркери тромбінемії, викликають посилення агрегації тромбоцитів
Екамуліновий час (ЕЧ)	Виявлення функціонально-неактивних форм протромбіну – маркера тромбінемії. Контроль ефективності лікування антикоагулянтами непрямої дії
Анцистроновий час (АЧ)	Характеристика кінцевого етапу зсідання крові під дією тромбіноподібного ферменту, який нечутливий до дії гепаринів. Одночасне скорочення часу зсідання плазми крові в тестах ТЧ та АЧ є показником розвитку тромбофілії.
D-димер	Продукти деградації фібрину, що входили до складу тромбу. Характеризує інтенсивність утворення та лізису фібринових згустків. Маркер тромбозу.
Комплекси тромбін-антитромбін (ТАТ)	Маркер гострого тромбозу. Присутність ТАТ в плазмі свідчить про утворення тромбіну в момент дослідження і про можливе виснаження резервів антикоагулянтів.
Фрагменти протромбіну F1+2	Відображають активність перетворення протромбіну в тромбін за участі протромбіназного комплексу (фактор Ха, фактор Va, фосфоліпідів та Ca ²⁺), який функціонує в умовах активації системи зсідання крові.

Розчинний фібринмономерний комплекс (РФМК) – є одним із головних показників стану гіперкоагуляції. Це олігомерні комплекси фібрину з фібриногеном та продуктами деградації фібрину/фібриногену. Накопичення РФМК свідчить про активацію системи зсідання крові, а також про порушення динамічної рівноваги між функціонуванням системи зсідання крові та фібринолізом. Існує декілька методів визначення РФМК в плазмі крові: 1) Треципітація різними хімічними агентами (ортофенантропіном,

протамінсульфатом, β -нафтолом, етанолом, фосфатами калію та натрію); 2) функціональними методами, які ґрунтуються на здатності розчинного фібрину прискорювати перетворення плазміногену в плазмін під дією тканинного активатора плазміногену; 3) імунохімічними методами з використанням фібринспецифічних антитіл. Останні є найбільш точними, так як дають точну кількісну інформацію. Для визначення РФМК у хворих на ХХН V Д ст. використовувалась методика бісайтового імуноферментного кількісного визначення продуктів плазмінового розщеплення фібрину, у якому як «catch»-антитіла були використані моноклональні антитіла – III-3b, а як «tag» – моноклональні антитіла II-4d, які були отримані у відділі структури та функції білків інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України проф., чл.-кор. АН Е. В. Луговським. Запропонований метод дозволяє визначити кількісний вміст ранніх форм розчинного фібрину, продуктів деградації розчинного фібрину плазміном, а також вміст розчинних продуктів плазмінової деградації фібрину із тромбу. Продукти деградації фібрину із тромбу відрізняються від таких із розчинного фібрину тим, що у перших немає фібринопептидів А (P. J. Gaffney et al.). Таким чином, вказаний метод дозволяє визначити загрозу тромбоутворення при різних захворюваннях та проводити моніторинг антитромботичної і тромболітичної терапії.

Екамуліновий час (ЕЧ) та функціонально неактивні форми протромбіну (ФНФП)

Екамулін – фермент-активатор протромбіну, виділений з отрути ефі багатолускової. На відміну від тромбопластину, який активує лише функціонально активний протромбін, екамулін активує як протромбін, так і його функціонально неактивні форми. При тромбінемії кількість ФНФП буде зростати, оскільки тромбін розщеплює протромбін з утворенням претромбіну 1 (неактивна форма). Виявити накопичення ФНФП можна при порівнянні результатів протромбінового та екамулінового тестів. Контрольний час зсідання донорської плазми в екамуліновому тесті – 120 с.

Результати тесту екамуліновий час можна представити як екамуліновий індекс – співвідношення часу зсідання плазми крові донорів та досліджуваної крові (при проведенні коагулометричного варіанту тесту). При накопиченні в

плазмі крові функціонально неактивних форм протромбіну екамуліновий індекс вище за протромбіновий. Значення екамулінового індекса відповідає загальному рівню протромбіну в плазмі крові. На основі дослідження впливу препаратів претромбіну на час зсідання плазми крові донорів в тесті екамуліновий час було встановлено кількісні закономірності щодо вмісту ФНФП. Якщо екамуліновий індекс вище протромбінового індексу на 10-20%, вміст ФНФП становить 1,2 мкг/мл, 20-40% - 2,4 мкг/мл, 40-60% - 3,6 мкг/мл.

При проведенні екамулінового та протромбінового тестів амідолітичним методом з використанням хромогенного субстрату можна визначити індекс накопичення ФНФП. Для розрахунку цього індексу результати протромбінового та екамулінового тестів представляють у вигляді протромбінового відношення (ПВ) та екамулінового відношення (ЕВ):

$$\text{ПВ} = (A_d/A_k)^{\text{МІЧ}} \quad (1),$$

$$\text{ЕВ} = A_d/A_k \quad (2),$$

де: A_d – екстинція при довжині хвилі 405-492 нм на мікропланшетному спектрофотометрі «Рідер» (відповідає амідолітичній активності досліджуваної плазми крові під дією тромбопластину (1) та екамуліну (2)), A_k – екстинція при довжині хвилі 405-492 нм на мікропланшетному спектрофотометрі «Рідер» (відповідає амідолітичній активності контрольної плазми крові донорів під дією тромбопластину (1) та екамуліну (2)), МІЧ – Міжнародний Індекс Чутливості тромбопластину.

Індекс накопичення ФНФП розраховують як співвідношення між екамуліновим та протромбіновим відношеннями:

$$\text{Індекс накопичення ФНФП} = \text{ЕВ/ПВ} \quad (3).$$

Співвідношення $\text{ЕВ/ПВ}=1$ відповідає нормі. Якщо отриманий індекс становить 1,2 та вище, то це є ознакою накопичення ФНФП в плазмі крові.

Приклад розрахунку:

Так, наприклад, в плазмі крові пацієнта:

- протромбінове відношення складає $(0,265/0,467)^{1,06} = 0,55$ (1)

- екамулінове відношення складає $0,350/0,348 = 1,0$ (2).

Відповідно, індекс накопичення ФНФП становитиме $1/0,55=1,8$, що свідчить про накопичення ФНФП.

Також встановлено, що цей індекс корелює з іншими показниками системи гемостазу. Так, в 70% випадків високий вміст РФМК асоціювався зі збільшенням індексу накопичення ФНФП, а в 44% випадків присутність ФНФП виявлялась у осіб зі зниженням рівню фізіологічного інгібітору зсідання крові протеїну С.

Визначення ЕЧ проводили наступним чином: в конічну скляну пробірку вносили 0,1 мл плазми крові та прогрівали при $t = 37^{\circ}\text{C}$, після чого додавали 0,1 0,025 М хлориду кальцію та 0,1 мл розчину екамуліну. Ретельно перемішуючи визначали час зсідання плазми крові (помірно струшували на водяній бані при $t = 37^{\circ}\text{C}$). Час зсідання плазми крові здорових донорів в тесті ЕЧ дорівнював 120 с*.

Осадження формених елементів крові проводили центрифугуванням 1200-1400 од. Плазму крові (супернатант) переносили в пробірку Еппендорфа.

Анцистроновий час (аналог рептилазного). Анцистрон - тромбіноподібний фермент, який на відміну від тромбіну не інгібується антитромбіном та гепарином, не активує фактор XIII, не викликає ретракцію згустків. В даному тесті ми використовували анцистрон-Н, виділений з отрути Щитомордника звичайного – *Agkistrodon halys halys*.

При проведенні гепаринотерапії час зсідання плазми крові в тесті тромбіновий час значно подовжується, тоді як в тесті анцистроновий час цього не спостерігається. Співставлення результатів тестів тромбіновий час та анцистроновий час дозволяє охарактеризувати чутливість плазми крові до гепарину. Також проведення цього тесту є доцільним для виявлення тромбофілічного стану, оскільки він тісно корелює з вмістом РФМК. Це було виявлено при комплексному аналізі порушень системи гемостазу в плазмі крові хворих з інфарктом міокарду, ТЕЛА, опіками. Накопичення РФМК супроводжувалось значним скороченням анцистронового часу ($r=-0,75$). Перевірка виявлених закономірностей в модельних системах, до складу яких входили донорська плазма крові та екзогенний фібрин-мономер, підтвердила наявність залежності між вмістом розчинного фібрину та скороченням часу зсідання плазми крові в тесті анцистроновий час.

Примітка: * – кров здорових донорів натщесерце набирали у вакутайнер з цитратом 3,8% у співвідношенні 1:9 без використання джгута.

Контрольний час в тесті – 30 с за умов коливання рівня фібриногену в межах нормальних показників (2,5-3,0 г/л).

Д-димери – це специфічні продукти деградації фібрину, який входив до складу тромбу. Вони утворюються під час лізису згустку під дією плазміну. Концентрація Д-димерів в сироватці крові пропорційна активності фібринолізу та кількості лізованого фібрину. Визначення Д-димерів, як і РФМК, проводиться з використанням ІФА-методів, при цьому використовуються моноклональні антитіла до епітопів Д-димерів, що утворюються лише при розщепленні нерозчинного фібрину плазміном. Оскільки фібриноген та розчинний фібрин-мономер не мають цих епітопів, то лише Д-димери є показником розщеплення фібрину під час фібринолізу. Імуносорбент являє собою полістироловий планшет, лунки якого сенсibiliзовані моноклональними антитілами, специфічними до Д-димеру («catch»-антитіла). Плазма, що вноситься в лунки планшета, формує комплекси антиген-антитіло, які виявляють в біотинільованими антитілами («tag»-антитіла). Ампліфікація сигналу відбувається після додавання стрептавидину, кон'югованого пероксидазою хрину. Після відмовки незв'язаних компонентів в лунки вносять проявник (суміш субстрату буфера і розчину хромогену тетраметилбензидину). Реакції зупиняють, додаючи стоп-реагент, а потім вимірюють оптичну щільність суміші в двоохвильовому режимі (450/620 нм). Оптична щільність суміші в лунках пропорційна концентрації маркера в зразках плазми. Концентрацію Д-димера враховують за калібровочною кривою, побудованою з використанням зразків з відомим вмістом відповідного маркера. Результати норми відповідає 70 ± 20 нг/мл.

До тестів, що дозволяють уточнити порушення в системі гемостазу при тромбофіліях та уточнити причину цього стану, можна віднести вивчення активності та вмісту інгібіторів зсідання крові (протеїну-С, протеїну-S, антитромбіну III, резистентності до активованого протеїну-С (РАПС), а також показників системи фібринолізу (ТАП, ПАІ-I) (табл. 1.3).

Таблиця 1.3. Уточнюючі тести для діагностики тромбофілій

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
Антитромбін III	Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові
Протеїн С	Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові
Протеїн S	Кофактор протеїну С. Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові
Тканинний активатор плазміногену (ТАП)	Характеризує потенціал системи фібринолізу
Інгібітор тканинного активатору плазміногену (ПАІ-1)	Характеризує активність інгібітору активатора плазміногену

Антитромбін III (АТIII). Відноситься до основних первинних фізіологічних антикоагулянтів і є інгібітором тромбіну, а також XIIa, XIa, IXa, VIIa факторів системи зсідання крові. Для визначення активності АТIII найбільш часто використовують метод, заснований на здатності плазми інактивувати екзогенний тромбін. Також АТ III визначають імунохімічними методами та тестами з хромогенними субстратами.

За рівнем зниження активності екзогенного тромбіну у % від норми оцінюють антитромбінову активність плазми крові. Нормальний рівень активності АТIII у дорослих становить 75-125% (цей діапазон співпадає в різних тест-наборах). За З. С. Баркаганом (1991) розрізняють такі ступені дефіциту АТIII: вкрай важкий – АТIII біля 5% (летальні тромбоемболії та інфаркти в перші роки життя), важкий – АТIII до 40% (часті спонтанні тромбози), помірний – АТIII 41-65% (спонтанні тромбози рідкі, але легко виникають при наявності провокуючих факторів), потенційний – АТIII 66-85% (схильність до розвитку тромбозів в ситуаціях ризику). Дефіцит АТIII може бути спадковим та набутим (підвищення споживання при тромбозах). Ми спостерігали формування помірною дефіциту АТ III у хворих з опіковою травмою ($57,2 \pm 12,8\%$), гострим інфарктом міокарду ($71,5 \pm 8,5\%$), у хворих з поліморфізмом по МТГФР та ГГЦ ($74,6 \pm 6,5\%$).

Протеїн-С. Для визначення протеїну-С використовують імунохімічні методи. Метод з хромогенним субстратом та коагуляційний. Для функціональних методів використовують специфічні активатори протеїну-С, виділені з отрути змій (зокрема отрути щитомордника). Для цього 30 мл плазми крові, 100 мл активатора протеїну С, 85 мкл 0,05 м трис-НСІ буферу з рН 7,4 і вмістом 0,13 м NaCl та 35 мкл 2 мМ хромогенного субстрату S2236 інкубують при t 37°C 15 хвилин. Кількість розщепленні гомогенного субстрату S2236 для протеїну С визначається спектрофотометрично за довжини хвилі 405 і 492 нм. Вміст протеїну С в плазмі крові в нормі дорівнює 100±15-20% і при значеннях >70% розцінюється як дефіцит та зростання схильності до тромбозів*.

Антикоагулянтна активність протеїну С, що пов'язана з протеолізом та інактивацією ф. VIIIa та Va є одним з основних фізіологічних бар'єрів тромбозу. Тому визначення резистентності ф. Va до активованого протеїну С (РАПС) – один з найперших підходів при виявленні індивідуального ризику тромбозу. Найбільш поширена причина РАПС – це мутація гена фактора V (Лейденська мутація), для виявлення якої використовують тест на РАПС з плазмою пацієнта, розбавленою 1:5 плазмою з дефіцитом ф. V. При додаванні активатора протеїну С до суміші нормальної та дефіцитної по ф. V плазми, час зсідання в тесті АЧТЧ збільшується вдвічі. При РАМС збільшення АЧТЧ є значно меншим. Паралельне використання тесту АЧТЧ та тесту сформованим субстратом дає змогу виявити порушення взаємодії між ф.Va зсідання крові, протеїном С та протеїном S на фосфоліпідній мембрані, що свідчить про стан коагуляційного каскаду внутрішнього шляху зсідання крові. Наприклад, зниження вмісту протеїну С спостерігалось у хворих з гострим інфарктом міокарду (65,3±4,96), опіковою хворобою (58,6±2,4%).

Протеїн S вітамін-К-залежний білок, кофактор активованого протеїну С (АПС). Для його визначення використовують коагуляційний та імунохімічний методи. Принцип коагуляційного методу полягає в тому, що досліджувану

* Примітка: рівень протеїну С може також знижуватися і до 50% при лікуванні варфарином, так як протеїн С є вітамін-К-залежним білком.

плазму змішують з плазмою дефіцитної за протеїном S. Після додавання активованого протеїну C та очищеного ф. Va визначали час сідання крові в тесті АЧТЧ. Збільшення часу зсідання крові пропорційно активності протеїну S.

Фактор X (Стюарта-Прауера) – вітамін-К-залежний глікопротеїн, який активується комплексом ф. VIIa, тканинний фактор (ТФ) та Ca^{2+} – (теназа зовнішнього згортання) і комплексом ФІХа, VIIIa, фосфоліпіди та Ca^{2+} (теназа внутрішнього згортання).

Визначення рівня функціонально активного ф. X відбувається при його активації в плазмі крові отрутою гадюки Расела (RVV). Для цього 10 мкл плазми крові, 5 мл RVV, 10 мкл М CaCl_2 та 200 мкл 0,05 М трис-НСІ буферу (рН 7,4) з вмістом 0,13 М NaCl та 25 мкл хромогенного субстрату S2765 інкубують при t 37°C. Кількість розщепленого хромогенного субстрату визначають спектрофотометрично за довжиною хвилі 405 і 492 нм.

Визначення вмісту фібриногену в плазмі крові проводили з використанням тромбіноподібного ферменту Анцистрона-Н, отриманого з отрути щитомордника звичайного. Для цього в скляну трубку вносили 0,2 мл досліджуваної плазми і 1,7 мл 0,1М фосфатного буфера (рН 7,0), а потім додавали 0,1 мл тромбіну – 2 НИН і 0,1 мл 0,04 М моноіодоцтової кислоти (якщо в процесі визначення замість тромбіну використовують Анцистрон-Н, то у фосфатний буфер не додають моноіодову кислоту для попередження активації ф. XIII, оскільки Анцистрон-Н не активує ф. XIII). Суміш ретельно перемішували скляною паличкою з притертою поверхнею і пробірку ставили в термостат (37°C), залишаючи в ній паличку. Після 30 хв. інкубації утворений згусток фібрину виймали шляхом викручування на паличку та віджимали рідину, натискуючи на стінки пробірки. Потім згусток декілька разів промивали в холодному розчині хлористого натрію, а рідину видаляли з поверхні легким дотиком до фільтрувального паперу. Утворений згусток розчинили в 5 мл 1,5% оцтової кислоти, а концентрацію протеїну в отриманому розчині визначали на спектрофотометрі, вимірюючи поглинання при довжині хвилі 280 і 320 нм.

ТАП (тканинний активатор плазміногену). ТАП вивільняється в кровоток з ендотеліальних клітин, де він синтезується. Активність ТАП можна

визначати за його здатністю в присутності стимулятора перетворювати плазміноген в плазмін, який далі буде розщеплювати хромогенний субстрат з вивільненням паранітроаніліду. В нормі активність ТАП складає 2,05 МЕ/мл, зниження його активності є предиктором тромбозів. Імунохімічні методи визначення ТАП дають інформацію про його кількість, але не характеризують активність (що є більш важливим).

Діагностика дефіциту ТАП полягає також в оцінці його здатності вивільнятися з судинної стінки при стресовому впливі. Для цього проводять пробу з дозованим стисканням вен манжеткою або джгутом на 10-15 хвилин і порівнюють вміст та активність ТАП до та після манжетової проби.

ПАІ-1 (інгібітор активатора плазміногену першого типу) – є основним інгібітором урокінази та ТАП. Підвищення ПАІ-1 є однією з причин рецидивних венозних тромбозів. Визначення ПАІ-1 проводять імунохімічними та функціональними методами. Оскільки вміст ПАІ-1 в плазмі крові підлягає циркадним коливанням, забір крові для дослідження необхідно проводити зранку в один і той же час. Визначення ПАІ-1 відбувається в декілька етапів – спочатку проводять інактивацію інгібіторів плазміну α 2-антиплазміну та α 2-макроглобуліну, а потім визначають залишкову активність доданого в надлишку плазміну.

Молекулярно-генетичні лабораторні тести, для виявлення причин тромбофілій. В останні роки були розгорнуті широкомасштабні дослідження генетично-обумовлених дефектів гемостазу як причин рецидивуючих тромбозів та тромбоемболій і з'ясувалось, що серед великого спектру спадкових факторів ризику тромбофілії найбільш вагомими є Лейденська мутація по фактору V зсідання крові, мутація по гену протромбіну G20210A та поліморфізм по метилентетрагідрофолатредуктазі (МТГФР) – ферменту обміну гомоцистеїну.

Лейденська мутація фактору V. Фактор V – глікопротеїн плазми крові, який прискорює перетворення протромбіну в тромбін під дією протеїнази фактору Ха при наявності фосфоліпідів та Ca^{2+} .

Точкова мутація гена фактору V в 1691 положенні (G1691A) приводить до заміни аргініну на глютамін в 506 положенні в білку, що обумовлює його резистентність до дії інгібітору зсідання крові активованого протеїну C. При цьому активований протеїн C не здатний інактивувати фактори V та VIII, що викликає підвищення рівня тромбіну та розвиток тромбофілічного стану. Лейденська мутація успадковується за аутосомно-домінантним типом і її частота коливається від 1 до 14% в різних популяціях. Серед осіб з тромбозами виявляється до 40% носів цієї мутації. Резистентність до активованого протеїну C формується у 90% осіб з лейденською мутацією. Мутація асоціюється з підвищеним ризиком венозних тромбозів (в 5-10 разів у гетерозигот та в 50-80 разів у гомозигот) та інфаркту міокарду. Нещодавно відкриті нові точкові мутації гену фактору V – в положенні 306 заміна аргініну на треонін (форма Кембрідж) або гліцин (форма Hong-Kong).

Мутація гену протромбіну G20210A. Заміна гуаніну на аденін в положенні 20210 в некодуєчій 3'-термінальній ділянці гену протромбіну приводить до зростання вмісту протромбіну в крові, що зумовлює збільшення ризику тромбозів в 3-5 разів. Успадкування мутації відбувається за аутосомно-домінантним типом, а її частота в європейській популяції складає 1-4% і у осіб з тромбозами зростає до 20%. Мутація асоціюється з підвищеним ризиком (в 3-5 рази) тромбозів глибоких вен, інфаркту міокарду, інсультів.

Поліморфізм по МТГФР. Найбільш частою мутацією гену МТГФР є заміна цитозину та тимін в 677 положенні (C677T), що приводить до заміни в білку валіну на аланін в 222 положенні. Наслідком цієї мутації є поява термолабільної МТГФР зі зниженою (на 35-50%) каталітичною активністю, що спричиняє порушення обміну гомоцистеїну та розвиток гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ). Успадкування відбувається за аутосомно-рецесивним типом, а поширеність цієї мутації в європейській популяції є достатньо високою - до 10-13% гомозигот (Т/Т) та до 50% гетерозигот (С/Т). Вважається, що ця мутація асоціюється з підвищенням ризику артеріальних та венозних тромбозів (в 2-3 рази) при розвитку гіпергомоцистеїнемії. Існують і менш поширені варіанти

точкових мутацій по МТГФР (A1298C чи A1793G), які також причетні до розвитку гіпергомоцистеїнемії.

Гіпергомоцистеїнемія. Гомоцистеїн – це замінна амінокислота, яка містить сірку у вигляді вільної сульфгідрильної групи. В організм людини гомоцистеїн із їжею не надходить, а з'являється як проміжний метаболіт в процесі перетворення метіоніну (незамінної амінокислоти, яка надходить із їжею) в цистеїн. Основним місцем утворення гомоцистеїну вважається печінка, в значно менших кількостях він також синтезується у лімфоцитах, фібробластах, ендотеліальних клітинах. Менш ніж 0,05% усього синтезованого гомоцистеїну екскретується у незмінному вигляді із сечею, решта – катаболізується в процесі тубулярної реабсорбції у тканині нирок.

Підвищення вмісту гомоцистеїну в плазмі крові є наслідком порушення рівноваги між його продукцією та метаболізмом. Причини виникнення ГГЦ можна поділити на дві групи: вроджені дефекти гомоцистеїнметаболізуючих ферментів (МТГФР, цистатіонін- β -синтетази та цистатіонін- γ -ліази) та набуті вади, що виникають внаслідок дефектів харчування (аліментарний дефіцит вітамінів B₂, B₆, B₁₂ та B₉, надлишок метіоніну), вікових порушень, шкідливих звичок (паління, зловживання кавою, алкоголь) та деяких захворювань (діабет, ниркова недостатність), прийомі певних лікарських препаратів (метотрексату, ізоніазиду та ін.), а іноді – з нез'ясованих причин.

ГГЦ тривалий час протікає безсимптомно і проявляється раннім розвитком коронарної хвороби серця, тромбозів, інсультів. Підвищення на 5 мкмоль/л рівня ГЦ в крові збільшує ризик коронарної хвороби серця на 60-80%. Ризик тромбозів при ГГЦ зростає в 3-5 разів. Нормальним вважається гомоцистеїну ГЦ до 10 мкмоль/л, субнормальним – рівень 10-15 мкмоль/л, високим – більше 15 мкмоль/л. Розрізняють легку ГГЦ – рівень гомоцистеїну 15-30 мкмоль/л; середню ГГЦ – 31-100 мкмоль/л; тяжку ГГЦ – більше 100 мкмоль/л.

Висока поширеність зазначених вище мутацій та ГГЦ в популяції приводить до накопичення значної частки осіб з одночасним носійством кількох порушень (наприклад, мутації по фактору V Лейден та протромбіну чи по МТГФР), що істотно збільшує ризик тромбозів для таких індивідуумів.

За результатами наших досліджень, в групі здорових мешканців Подільського регіону поширеність Лейденської мутації складає 2,9%, поліморфізм по протромбіну G20210A – 1,5% та МТГФР С677Т – 40% (10% гомозигот) без чіткого превалювання серед чоловіків та жінок. В групі хворих з венозними тромбозами відбувається накопичення мутацій по фактору V Лейден, протромбіну G20210A та МТГФР. Характерною відмінністю групи хворих з венозними тромбозами від контрольної групи є поява носіїв з комбінованими генетичними порушеннями (8%), при цьому найбільш часто поєднується лейденська мутація та поліморфізм по МТГФР. Поширеність ГГЦ у хворих з венозними тромбозами становить біля 30%, порівняно з 10% у здорових осіб.

Антифосфоліпідні антитіла (АФА). Оскільки однією з причин спонтанного тромбоутворення є антифосфоліпідний синдром (первинний або набутий), визначення АФА входить до програми скринінгу на тромбофілію.

АФА відносяться до імуноглобулінів класів IgG та IgM, рідше IgA. Визначають аутоантитіла до кардіоліпіну, фосфатидилсерину, β_2 -глікопротеїну I (табл. 1.4), причому антитіла проти β_2 -глікопротеїну I є більш специфічними, ніж антитіла до фосфоліпідів.

Таблиця 1.4. Спектр антифосфоліпідних антитіл, які виявляють в сироватці крові хворих з антифосфоліпідними синдромом

Антифосфоліпідні АТ, які виявляються за допомогою ІФА, де в якості антигену використовується кардіоліпін	Кардіоліпінові АТ
	АТ до β_2 -глікопротеїну I
	АТ до інших фосфоліпідів'язуючих білків
Антифосфоліпідні АТ, які виявляються за допомогою фосфоліпід-залежних коагуляційних тестів (вовчаків антикоагулянт)	АТ до протромбіну
	АТ до β_2 -глікопротеїну I
	АТ до фактору V
	АТ до фактору X
	АТ до фосфоліпідів

Лабораторним підтвердженням антифосфоліпідного синдрому є виявлення високого вмісту АФА в сироватці крові як мінімум 2 рази з інтервалом не менш, ніж 6 тижнів. Позитивним вважається результат, коли вміст АФА в 2 рази (і більше) вище норми (АФА завжди присутні в сироватці здорових осіб в низькому титрі).

Визначення балансу між системами згортання крові і фібринолізу проводили за допомогою аналізу загального гемостатичного потенціалу (ЗГП) (overall haemostasis potential), за методикою яка ґрунтується на оцінці кривої залежності величини поглинання світла згустком при 405 нм від часу. Реєстрацію проводили на мікрорідері Multiskan (Фінляндія). Крива демонструє утворення і руйнування згустку у плазмі крові в присутності тромбопластину і тканинного активатора плазміногену [3, 4]. Контролем слугувала плазма 20 донорів добровольців (8 жінок та 12 чоловіків). Спектрофотометрично реєструвалася абсорбція світла при 405 нм фібриновим згустком, що утворювався в спектрофотометричній кюветі, у яку послідовно додавали до 0,05 М HEPES буфера рН 7,4, що містив 0,15 М NaCl, 70 мкл плазми крові, тканинний активатор плазміногену (t-PA фірми Boehringer Ingelheim) до кінцевої концентрації 75 IU/мл і АЧТЧ реагент (фірми Ренам). Процес згортання плазми ініціювали додаванням 25 мМ CaCl₂. Кінцевий об'єм реакційної суміші становив 300 мкл. Загальний гемостатичний потенціал (ЗГП) характеризувався величиною площі під кривою мутності згустку від моменту ініціації згортання плазми до моменту повного руйнування згустку у присутності тканинного активатора плазміногену. Згортаючий потенціал (ЗП) оцінювали як площу під кривою утворення згустку за відсутності t-Ра. Фібринолітичний потенціал (ФП) становив різницю між величинами ЗП та ЗГП. Усі величини виражалися в одиницях оптичної густини, помноженої на час у секундах (о.о./с) [4]. За контроль слугували реакційні суміші без тромбопластину. Величину поглинання при 405нм у контролі віднімали від значень поглинання у дослідженнях.

Характеристика та можливості методу аналізу загального гемостатичного потенціалу.

Як свідчать дані літератури, загальний гемостатичний потенціал (ЗГП) плазми крові (overall haemostasis potential) є сучасним підходом для визначення тонкого балансу між системами згортання крові і фібринолізу [3]. В основі методу лежить аналіз кривої залежності величини поглинання світла згустком, яка відповідає процесу утворення та руйнування згустку в плазмі крові у присутності тромбопластину і тканинного активатора плазміногену (t-Ра). Весь процес утворення та руйнування фібринового згустку виглядає наступним чином: наявний у тромбопластині тканинний фактор утворює з фактором VІІа комплекс, котрий активує фактори X, ІХ та VІІ [3, 7]. Активований фактор Xа безпосередньо сприяє переходу протромбіну у тромбін, який утворюється в досить незначних концентраціях та, у свою чергу, активує фактори V, VІІІ, XІ, що супроводжується утворенням теназного (FІХа-FVІІІа) і протромбіназного (FХа-FVa) комплексів на фосфоліпідній поверхні тромбопластину [7]. Вказані комплекси різко прискорюють активацію FХ у FХа і, як наслідок, перетворення протромбіну у тромбін [2, 8]. В подальшому утворений внаслідок активації згортання крові тромбін перетворює фібриноген у фібрин, котрий після полімеризації формує фібриновий згусток. Останній сорбує на своїй поверхні плазміноген та його тканинний активатор (t-Ра), який стимулює перехід плазміногену у плазмін, що призводить до руйнування фібринового згустку [3, 8]. Таким чином, площа під кривою поглинання буде варіювати в залежності від концентрації коагулянтів, антикоагулянтів або компонентів фібринолізу [3]. Дані літератури вказують на інформативність кривої поглинання, як в умовах *in vitro*, так і в плазмі крові *in vivo* [4]. Відомо, що тромбін в судинному руслі зв'язується з тромбомодуліном і активує антикоагулянтну систему, основним білком якої є протеїн С, що сприяє регуляції рівня тромбіну, таким чином зменшуючи вірогідність тромбозів. На рис. 1.1 представлена схематична крива, що характеризує процеси утворення і руйнування фібринового згустку в плазмі крові та яку використовували для визначення загального гемостатичного потенціалу.

Як видно з рис. 1.1, представлена крива характеризується трьома основними ділянками: перша – складається з лаг-періоду (t), який відповідає часу утворення протофібрил фібрину і асоціюється із протромбінним часом та швидкістю зростання поглинання ($\text{tg}\alpha$), що відповідає швидкості латеральних зв'язків протофібрил у ході формування фібринових фібрил і корелює з концентрацією фібриногену і тромбіну [3, 4]. Друга ділянка представляє плато і характеризується

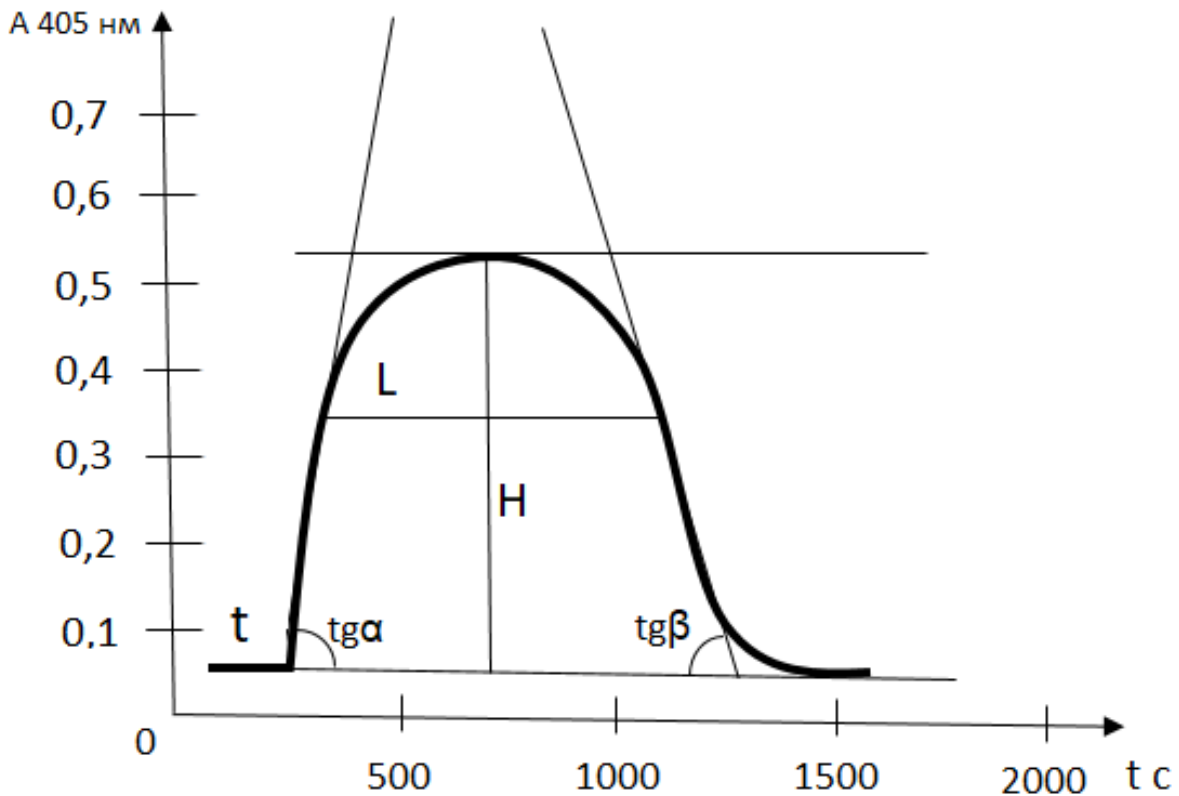


Рис 1.1. Характерна крива утворення і руйнування згустку (схема).

t – лаг- період згортання плазми в с.; $\text{tg}\alpha$ – швидкість зростання поглинання; H – максимальне поглинання (максимальна мутність згустку); L – час напівруйнування згустку; $\text{tg}\beta$ – швидкість руйнування фібринового згустку.

максимальним поглинанням згустку, що залежить від концентрації фібриногену і діаметру фібрил в плазмі крові [3, 4]. Третя ділянка відповідає процесу руйнування фібринового згустку і характеризується швидкістю його руйнування ($\text{tg}\beta$), яка визначається концентрацією плазміну в згустку і інгібіторів плазміну в плазмі [4]. Отже, наведена характеристика кривої

утворення і руйнування згустку в плазмі крові свідчить, що перша та друга ділянки кривої відображають коагулянтну здатність плазми крові (потенціал зовнішнього шляху системи згортання), концентрацію фібриногену і наявність у плазмі крові інгібіторів системи згортання, а третя – характеризує фібринолітичну здатність системи гемостазу (швидкість активації плазміногену, швидкість руйнування згустку плазміном та концентрацію інгібіторів фібринолізу) [3]. Таким чином, результуюча крива містить інформацію про взаємодію складових системи гемостазу, що визначається розміром та часом існування фібринового згустку [4]. Інтегральним параметром вказаної кривої є площа поверхні, яку охоплює ця крива. Вона визначається як площа трапеції, в котру вписана крива загального гемостатичного потенціалу, значення якого вимірюють одиницями оптичної щільності за секунду [3, 4]. Даний метод кількісного визначення загального гемостатичного потенціалу має підтвердження своєї спроможності для визначення параметрів як коагулянтної, так і фібринолітичної складової плазми крові і в науковій літературі [3, 4, 9].

Розділ 2. Вплив деяких коморбідних станів та синдромів на показники гемостазу у хворих ХХН VД стадії

2.1. Стан показників гемостазу у хворих ХХН VД стадії в умовах гострого запалення.

Як зазначено вище, процес хронічного запалення у хворих ХХН VД стадії вивчений досить різнобічно [21]. Відомо, що хронічне запалення є наслідком складних метаболічних та імунологічних порушень внаслідок уремії та декомпенсації багатьох захисних систем організму, які напряду поєднані з процедурою гемодіалізу. Оскільки запалення і гемостаз є взаємопов'язаними процесами, а гемодіаліз ініціює запальну реакцію і активацію коагуляційного каскаду, то особливої уваги у патофізіологічних механізмах прогресування ХХН надається цитокінам та їхній аномальній продукції і гіперсекреції. При цьому, показники гострого запалення на тлі хронічного процесу та їхній вплив на гемостаз вивчені недостатньо, у той час як процес гострого запалення може бути однією з перших ланок в патогенезі тромбофілій. СРБ – білок гострої фази, яка характеризується зміною проникності судин, модифікацією процесів метаболізму із залученням в процес імунної, ендокринної, нервової, серцево-судинної та інших систем. За літературними даними, підвищення рівня СРБ вище 10мг/л у діалізних хворих призводить до зростання смертності у 3,5 рази за п'ять років спостереження, і є прогностично небезпечним показником за відсутності його зниження після діалізу [6]. Оцінка швидкої фази запалення за кількісним визначенням СРБ у хворих ХХН VД ст. показала, що у 18,2% пацієнтів цей показник значно перевищує середні значення в загальній групі ($p < 0,001$) (табл. 2.1). Варто зазначити, що 84% хворих цієї групи мали анемію III ст., 12% - II ст. і 4% - I ст., а рівень гемоглобіну у них мав тенденцію до зниження у порівнянні з загальною групою. Середній строк перебування на гемодіалізі у цих хворих не відрізнявся від усієї групи і становив $7,8 \pm 0,9$ роки. При порівнянні даних гемостазу загальної групи із групою, у якої концентрації СРБ були високими ($16,5 \pm 0,85$ мг/л), встановлено, що достовірного збільшення досліджуваних показників маркерів гемостазу не відбувається, за виключенням

Таблиця 2.1. Показники маркерів та параметрів гемостазу у хворих ХХН VД стадії на тлі підвищеної концентрації С-реактивного білку

№ з/п	Групи хворих	n	СРБ мг/л	Показники гемостазу						
				Фг мг/мл	Д-д нг/мл	рС %	рФ мкг/мл	Нв г/л	ЗП о.о./с	ФП о.о./с
1	Загальна група	88	7,84 ± 0,39	4,15 ± 0,12	75,95 ± 10,35	80,05 ± 1,47	3,54 ± 0,14	85,97 ± 2,10	303,0 ± 15,0	99,7 ± 6,48
2	Група з високим рівнем СРБ	16	16,5 ± 0,85 ***	4,85 ± 0,29 **	90,53 ± 7,44	84,06 ± 3,94	3,52 ± 0,18	82,75 ± 4,96	425,9 ± 45,5 **	137,5 ± 18,0 *

Примітки: * - достовірність при $p < 0,05$; ** - достовірність при $p < 0,02$; *** - достовірність при $p < 0,001$; СРБ – С-реактивний білок; Фг – фібриноген; Д-д – Д-димер; рС – протеїн С; рФ – розчинний фібрин; Нв – гемоглобін; ЗП – згортаючий потенціал; ФП – фібринолітичний потенціал.

фібриногену, концентрація якого зростала на 17% ($4,85 \pm 0,29$ проти $4,15 \pm 0,12$ мг/мл) ($p < 0,02$). Також варто зазначити тенденцію до підвищення рівня Д-димеру ($90,53 \pm 7,44$ проти $75,95 \pm 10,35$ нг/мл) ($p > 0,05$) та протеїну С ($84,06 \pm 3,94$ проти $80,05 \pm 1,47\%$) ($p > 0,10$), що можна розцінювати як спробу активації системи фібринолізу та антикоагуляції у відповідь на збільшення концентрації фібриногену. Цікавим, на наш погляд, є те, що збільшення рівня фібриногену в плазмі крові відбувається на тлі і так високих його показників, які достовірно перевищують цільові значення. Останнє може свідчити, що наявність гострого запалення ще більш активує один із важливих компонентів гіперкоагуляції – глікопротеїн фібриноген, який є єдиним білком гострої фази згортання, що під дією тромбіну перетворюється на фібрин. Ще одним поясненням збільшення рівня фібриногену може бути те, що він є також джерелом утворення фібринопептидів з протизапальною дією. На тлі запального процесу спостерігались достовірні зміни і параметрів гемостазу, так згортаючий потенціал збільшувався на 40% ($p < 0,02$) порівняно із загальною групою (табл. 2.1), що вказує на високу схильність плазми крові до згортання. Паралельно зі збільшенням згортаючого потенціалу відбувалось достовірне подовження часу фібринолізу з $99,7 \pm 6,48$ о.о./с до $137,5 \pm 18,0$ о.о./с ($p < 0,05$), а також збільшення

максимальної мутності згустку (Н) порівняно з контролем ($P < 0,001$) та тенденції до збільшення порівняно з загальною групою ($0,492 \pm 0,011$ о.о. проти $0,377 \pm 0,113$ о.о. відповідно) ($P > 0,1$). Вказані процеси підтверджують думку про відсутність адекватної фібринолітичної реакції у даної групи хворих на підвищення згортаючого потенціалу плазми крові. Аналіз кореляційних зв'язків СРБ з маркерами та параметрами гемостазу виявив середньої сили позитивну залежність цього протеїну з ФП ($r = 0,56$), ЗП ($r = 0,45$) та слабку - з Д-димером ($r = 0,25$) (рис 2.1.).

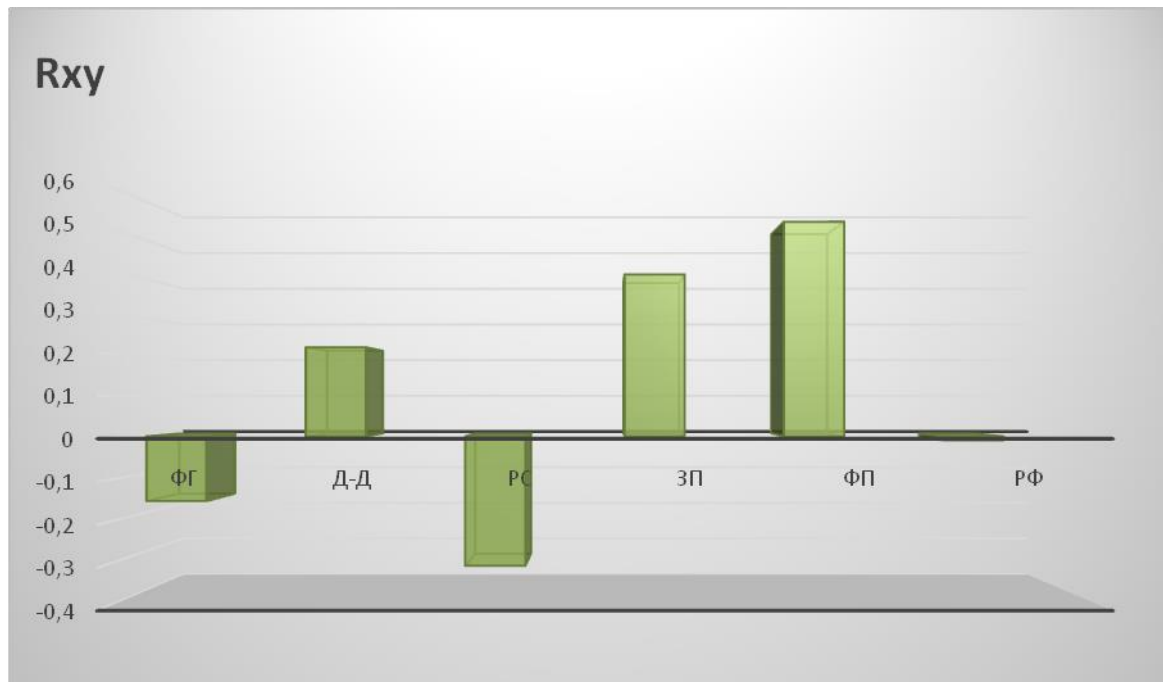


Рис. 2.1. Кореляційний зв'язок СРБ з фібриногеном (ФГ), Д-димером (Д-д), протеїном С (рС), розчинним фібрином (рФ), згортаючим потенціалом (ЗП) та фібринолітичним потенціалом (ФП).

Натомість, спостерігалась середньої сили зворотня залежність СРБ з протеїном С ($r = -0,33$), тоді як розчинний фібрин не виявляв кореляційних зв'язків ($r = -0,05$), а фібриноген показував слабку негативну залежність ($r = -0,12$). Така динаміка кореляційних відношень досить логічно вписується у процес гіперкоагуляції за відсутності активації антикоагулянтної ланки та фібринолізу. Відсутність кореляції СРБ з розчинним фібрином на цьому етапі коагуляційного процесу цілком зрозуміла, оскільки відбувається процес його полімеризації (утворення мікрозгустків в мікроциркуляторному руслі). Низька

ж негативна кореляція з фібриногеном пояснюється досить високою дисперсією значень його концентрацій у плазмі крові (від 2,2 до 7,8 мкг/мл), а також значно сильнішою реакцією СРБ.

Таким чином, наявність швидкої фази запалення у хворих ХХН VД ст. досить суттєво впливає на показники системи гемостазу, та ще більше посилює перевагу гіперкоагуляційних процесів. В клінічних умовах визначення показників СРБ та фібриногену є буденним, тому спостереження за їхньою динамікою можливо використовувати як одну із допоміжних компонент оцінки гемостазу з метою виділення груп ризику з розвитку тромбофілій.

2.2. Вплив вторинного гіперпаратиреозу та порушень фосфорно-кальцієвого метаболізму на показники гемостазу у хворих ХХН VД стадії.

Вторинний гіперпаратиреоз (ВГПТ) належить до трійки основних ускладнень у хворих ХХН VД стадії і за частотою виникнення сягає 80% [22]. ВГПТ є реакцією на дефіцит активної форми вітаміну Д (кальцитріолу), що утворюється у проксимальних каналцях нефронів, і зменшує активацію вітамін-Д чутливих рецепторів, розташованих на мембранах клітин прищитоподібних залоз та індукує гіпокальціємію за рахунок порушення всмоктування кальцію в кишківнику. Зменшення кількості та недостатня активація рецепторів, чутливих до вітаміну Д, разом з гіпокальціємією, стимулюють секрецію паратгормону. Різке зниження функції нирок призводить до позитивного балансу в обміні фосфору та гіпокальціємії, які частково компенсуються підвищеним синтезом паратгормону [22]. Відомо, що при рівні паратгормону вище 600 пг/мл ризик смерті збільшується у 2 рази за рахунок судинної кальцифікації, кальцинозу клапанів, ішемічної хвороби серця, цереброваскулярних захворювань, гіпертензії [22]. Формування артеріальної гіпертензії пов'язують з такими факторами, як: активація ренин-ангіотензин-альдостеронової системи, гіперкальціємія, додаткова продукція паратиреоїдного гіпертензивного фактору, збільшення секреції АКТГ та глюко-і мінералокортикоїдів, а також втратою чутливості гладеньких м'язів судин до

власних вазодиліаторів. Разом з тим, невідомо, як впливають високі концентрації паратгормону на показники гемостазу у даної категорії хворих.

У нашому дослідженні показники іонізованого кальцію, фосфору та рівень паратиреоїдного гормону визначались згідно протоколу обстеження для даної категорії хворих, за призначенням лікаря-нефролога. Із загальної групи хворих, які лікуються гемодіалізом, вказані обстеження було проведено 57 хворим (31 чоловікові та 26 жінкам). За рівнем концентрації паратгормону хворі розподілилися наступним чином: 19,% (n=11) склали групу з нормальними показниками, 35% (n=20) – мали показники до 400пг\мл ще 28,1% (n=16) – від 400 до 800 пг/мл і у 17,5% (n=10) концентрація паратгормону перевищувала рівень800 пг/мл (рис. 2.2).

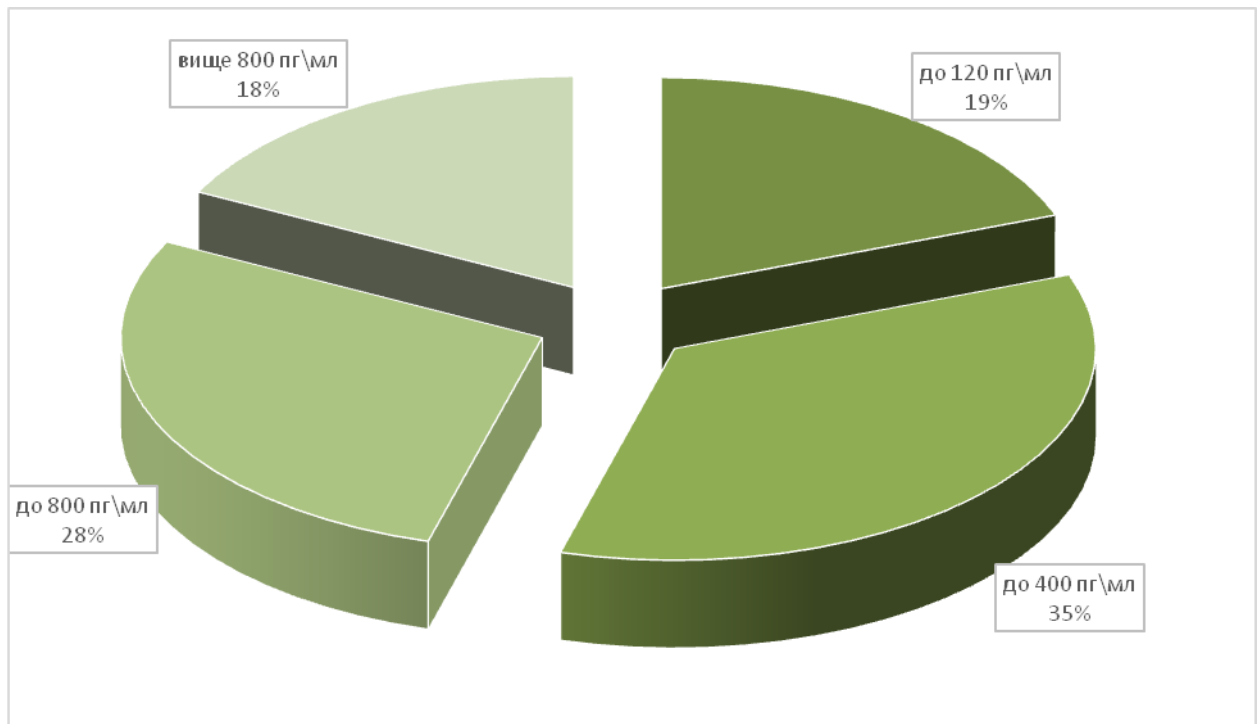


Рис. 2.2 Розподіл хворих за концентрацією паратиреоїдного гормону.

Як свідчать дані таблиці 2.2, у загальній групі хворих незалежно від статі середній рівень іонізованого кальцію відповідав показникам норми (1,16-1,32 ммоль/л). Разом з тим, у 23 хворих (40,4%) спостерігається зниження концентрації кальцію нижче цільових значень, і лише у 8 хворих (14,0%) його рівень дещо перевищував межі норми. Показники ж іонізованого фосфору у всіх групах були значно вищі від граничних значень (0,87-1,45 ммоль/л) як у

жінок, так і у чоловіків ($p < 0,001$). При цьому, гіперфосфореція відмічалась у 40 хворих (70,2%), а її рівні не залежали від статі. Показники паратгормону в загальній групі у 6 разів перевищували верхній рівень граничних значень з тенденцією до зростання концентрацій у жінок порівняно з чоловіками (табл. 2.2). Необхідно зазначити високу дисперсність вмісту паратгормону і відсутність кореляційних зв'язків його рівня з концентраціями кальцію та фосфору в плазмі крові. Середні показники гемоглобіну у чоловіків і жінок в цій групі були на рівні анемії II ступеню важкості ($Hb - 86,1 \pm 2,73$ г/л) та не відрізнялись від усієї групи обстежених. Також не спостерігалось достовірних відмінностей у цій групі і в відсотку артеріальних гіпертензій. Останнє пояснюється багатофакторним впливом основного захворювання на ці показники у даної категорії хворих.

Таблиця 2.2. Показники іонізованого кальцію, фосфору та паратгормону у чоловіків і жінок з ХХН VД стадії

№ з/п	Групи хворих	n	Показники мінерального обміну		
			Ca ⁺⁺ ммоль/л	P ммоль/л	Паратгормон пг/мл
1	Належні значення***	-	1,16 ÷ 1,32	0,87 ÷ 1,45	9,0 ÷ 75,0
2	Загальна група	57	1,22 ± 0,029	1,91 ± 0,13*	480,9 ± 63,4**
3	Чоловіки	31	1,19 ± 0,032	1,81 ± 0,10*	444,8 ± 84,2**
4	Жінки	26	1,24 ± 0,034	2,03 ± 0,18*	535,4 ± 107,1**

Примітки: * - достовірність при $p < 0,05$, ** - достовірність при $p < 0,001$. Ca⁺⁺ - кальцій, P – фосфор; *** - прийнятий діапазон лабораторних норм.

Варто зазначити, що у хворих з рівнем паратгормону, вищим за 800 пг/мл, спостерігається достовірне підвищення концентрації у плазмі крові розчинного фібрину у порівнянні як із загальною групою ($5,09 \pm 0,65$ проти $3,57 \pm 0,24$ мкг/мл), так і з групою, у якій показники паратгормону достовірно не перевищували граничних значень ($5,09 \pm 1,35$ проти $3,40 \pm 0,38$ мкг/мл) ($p < 0,05$). Такий феномен можна пояснити участю іонів кальцію у коагуляційному каскаді. Так відомо, що фібриноген має три центри зв'язування кальцію високої афінності та декілька - слабкої [8], тому рівень іонізованого кальцію, який змінюється під дією високих концентрацій паратгормону, може впливати на якомусь відрізку часу на процес

перетворення фібриногену під дією тромбіну у фібрин. Враховуючи, що процес коагуляції закінчується утворенням фібринового тромбу в якому полімеризація фібрину відбувається за участі іонів кальцію та XIIIа фактору згортання, логічно припустити, що в умовах гіпокальціємії цей процес сповільнюється і, як результат, концентрація розчинного фібрину впродовж більшого часу залишається високою, що жодним чином не зменшує ризику тромбоутворення.

Підтвердженням цієї гіпотези може бути й рівень розчинного фібрину у хворих з підвищеною концентрацією іонізованого кальцію, який достовірно не відрізняється від показників загальної групи ($3,21 \pm 0,17$ проти $3,57 \pm 0,24$ мкг/мл) ($p > 0,10$). Також необхідно зазначити, що тенденція до підвищення рівня розчинного фібрину у групі хворих з вмістом паратгормону вище 800 пг/мл не призводить до симетричного підвищення концентрації Д-димеру. При цьому, залишаються незмінно низькими рівні протеїну С при достовірно підвищеному вмісті фібриногену у загальній групі та у групі з рівнем паратгормону вищим за 800 пг/мл порівняно з групою, у якої концентрація паратгормону не перевищувала 120 пг/мл ($p < 0,02$ та $p < 0,05$ відповідно) (табл. 2.3).

Таблиця 2.3. Показники гемостазу у хворих ХХН VД стадії з вмістом паратгормону вище 800 пг/мл

№ з/п	Групи хворих	n	Показники гемостазу			
			рФ мкг/мл	Д-д нг/мл	рС %	Фг мг/мл
1	Загальна група	57	$3,57 \pm 0,24$	$76,85 \pm 9,35$	$80,60 \pm 1,97$	$4,13 \pm 0,14$
2	ПГ до 120 пг/мл	11	$3,40 \pm 0,38$	$65,84 \pm 8,22$	$85,54 \pm 3,74$	$3,45 \pm 0,23$
3	ПГ вище 800 пг/мл	10	$5,09 \pm 0,65$	$71,90 \pm 10,06$	$80,8 \pm 4,62$	$4,16 \pm 0,28$
4	Р		P1-3 $< 0,05$ P2-3 $< 0,05$	-	-	P1-2 $< 0,02$ P2-3 $< 0,05$

Примітки: ПГ – паратгормон; рФ – розчинний фібрин; Д-д – Д-димер; рС – протеїн С; Фг – фібриноген, ПГ – паратгормон.

Таким чином, у хворих ХХН VД стадії відбуваються значні порушення в системі мінерального обміну, які призводять до гіперфосфоремії, гіпокальціємії та вторинного гіпаратиреозу, що, безперечно, впливає на показники гемостазу. Не виключено, що високі концентрації паратгормону (вище

800 пг/мл) в поєднанні з гіперфосфоремією та ростом рівня розчинного фібрину можуть бути передвісником тромбозу.

2.3 Інфікованість хворих ХХН VД стадії, які перебувають на програмному гемодіалізі, вірусами гепатиту В і С та їхній вплив на деякі показники гемостазу.

Одними із частих коморбідних станів у хворих ХХН VД стадії, які лікуються програмним гемодіалізом, є хронічні вірусні гепатити [16, 17]. Ця категорія хворих належить до групи високого ризику інфікування у зв'язку з виконанням потенційно небезпечних для зараження вірусом маніпуляцій (доступ до екстракорпорального кола, накладання артеріовенозного шунта або фістули, мікрооперації по тромбектомії з шунта, ін'єкції тощо). Супутня патологія у вигляді будь-якого гепатиту, чи їхнього міксту значно ускладнює перебіг основного захворювання, посилюючи процеси інтоксикації та хронічного запалення. Як свідчать літературні дані, у хворих, що перебувають на гемодіалізі понад п'ять років, виявлення антитіл до гепатиту С становить більше 45%, а до гепатиту В – 16%, і ці показники збільшуються пропорційно строку перебування на такому лікуванні [17]. Водночас, в літературі відсутні однозначні дані щодо впливу на показники гемостазу хворих, які лікуються гемодіалізом, інфікованості вірусними гепатитами. Разом з тим, доведено, що білково-синтетична функція печінки у хворих на гемодіалізі погіршується, і гепатити додають свого негативного впливу на цей процес порушуючи посттрансляційне γ -карбоксилювання вітамін К-залежних білків. Тоді як відомо, що одним із компонентів системи згортання крові є вітамін К-залежні білки. Так, фактори системи згортання II – протромбін, VII – проконвертин, IX – фактор Кристмаса, X – фактор Стюарта-Прауера та фактори антикоагуляції – протеїн С, протеїн S належать до цієї групи білків. Варто зазначити, що доведеним фактом є те, що зниження рівня функціональної активності окремих вітамін К-залежних факторів при ушкодженні печінки різне і обумовлене неоднаковою швидкістю, як розпаду, так і синтезу в печінці. Останнє визначає, яка саме ланка гемостазу буде переважати: про- чи протикоагуляційна.

Встановлено, що серед обстежених хворих, які перебувають на гемодіалізі (термін від 1 до 20 років) у 34% (n=30) виявлено антитіла до гепатиту В або С, а ще 4,5% мають асоційований гепатит В+С. Як уже було визначено раніше, рівень розчинного фібрину у загальній групі хворих на гемодіалізі достовірно перевищував його концентрації в контрольній групі. Оцінка ж рівня розчинного фібрину у групі інфікованих показала подальше достовірне зростання його концентрації (табл. 2.4) з $3,34 \pm 0,16$ до $4,14 \pm 0,27$ мкг\мл у хворих на гепатит С ($p < 0,05$) та тенденцію до його зростання у хворих на гепатит В ($p > 0,05$). Такий факт необхідно розцінювати як активацію системи згортання, оскільки розчинний фібрин є одним із ранніх молекулярних маркерів схильності до тромбозу. Разом з тим, цікавим є порівняльний аналіз між вмістом розчинного фібрину та накопиченням Д-димеру, який за логікою мав би підвищуватись паралельно.

Однак, як свідчать дані таблиці 2.4, рівень Д-димеру достовірно не змінюється в жодній із груп, демонструючи лише незначну тенденцію до зростання, що може вказувати на недостатню фібринолітичну активність плазми крові. Підтвердженням цього факту є тенденція до подовження фібринолізу та посилення згортаючого потенціалу в обох групах інфікованих хворих.

Таблиця 2.4. Показники гемостазу у хворих ХХН VД стадії, інфікованих вірусами гепатиту В та С

№ з/п	Групи хворих	n	Показники гемостазу							
			ПІ %	Фг мг/мл	рФ мкг/мл	рС %	Д-д нг/мл	ЗП о.о./с	ФП о.о./с	фХ %
1	Хворі без гепатиту	58	86,29 $\pm 0,85$	4,11 \pm 0,14	3,34 \pm 0,16	81,01 $\pm 1,67$	75,95 $\pm 10,35$	303,0 $\pm 15,04$	99,7 \pm 6,48	89,4 $\pm 4,23$
2	Хворі на гепатит С	16	87,5 \pm 2,34	3,98 \pm 0,23	4,14 \pm 0,27*	81,88 $\pm 4,04$	99,98 \pm 33,07	326,0 \pm 29,8	113,2 $\pm 13,46$	86,3 $\pm 6,02$
3	Хворі на гепатит В	14	84,7 \pm 1,96	3,88 \pm 0,34	4,05 \pm 0,35	71,5 \pm 4,08*	81,5 \pm 14,81	317,2 \pm 43,97	109,7 \pm 15,36	84,3 $\pm 7,34$

Примітки: ПІ – протромбіновий індекс, Фг – фібриноген, рФ – розчинний фібрин, рС – протеїн С, Д-д – Д-димер, ЗП – згортаючий потенціал, ФП – фібринолітичний потенціал, ф.Х – фактор згортання.

* - достовірність при $p < 0,05$ з загальною групою.

Антикоагулянтна активність протеїну С як одного із основних фізіологічних бар'єрів тромбозу достовірно знижувалась відносно неінфікованої групи з $81,01 \pm 1,67\%$ до $71,5 \pm 4,08\%$, тільки в групі інфікованих на гепатит В ($p < 0,05$). Тобто пригнічення антикоагулянтної ланки гемостазу у хворих на гепатит В може бути пов'язано зі специфічною дією вірусу на білково-синтетичну функцію печінки. Аналіз показників ще одного вітамін К-залежного глікопротеїну – фактору згортання Х, виявив, що його рівень в загальній групі перебуває у межах допустимої норми ($100 \pm 15\%$) і практично не змінюється в групах інфікованих хворих ($p > 0,1$). Таким чином, інфікованість на гепатити В та С хворих на ХХН VД стадії сприяє активації факторів згортання крові, пригніченню антикоагулянтних властивостей плазми (характерно для гепатиту В) та тенденції до подовження фібринолізу для обох груп. Тобто інфікованість хворих на гепатити посилює дисбаланс у системі гемостазу, і при цьому не спостерігається симптомів гіпокоагуляції.

2.4. Стан про- та антикоагуляційної ланок гемостазу у хворих ХХН VД стадії в залежності від залишкової функції нирок.

В обстеження було включено 88 хворих з ХХН VД стадії (52 чоловіки та 36 жінок), у 16 із яких (18,2%) виявлено збережену ЗФН (діурез від 500 до 1300 мл/добу).

Як свідчать дані табл. 2.5, у хворих ХХН VД ст. за відсутності ЗФН відмічається достовірне зростання концентрації розчинного фібрину, як відносно контролю, так і відносно хворих зі збереженою ЗФН ($p < 0,02$), яке становить $3,54 \pm 0,14$ мкг/мл. Натомість, показника рівня розчинного фібрину у групі зі збереженою ЗФН мали тільки тенденцію до зростання відносно контролю і дорівнювали $2,96 \pm 0,19$ мкг/мл ($p > 0,05$). При цьому, потрібно зазначити, що у обох групах хворих відмічається тенденція до зниження концентрації Д-димеру порівняно з контролем, а у пацієнтів зі збереженою ЗФН рівень Д-димеру достовірно знижувався порівняно з хворими, у яких була відсутня ЗФН ($p < 0,05$).

Таблиця 2.5. Показники гемостазу у хворих ХХН VD ст. зі збереженою ЗФН та за її відсутності

№ з/п	Показники гемостазу	Контрольна група (n = 20) (донори)	Хворі зі збереженою ЗФН (n = 16)	Хворі за відсутності ЗФН (n = 72)	P
		I	II	III	
1	Розчинний фібрин, мкг/мл	2,60 ± 0,37	2,96 ± 0,19	3,54 ± 0,14	P _{I-II} >0,05 P _{I-III} <0,02 P _{II-III} <0,02
2	Д-димер, нг/мл	95,0 ± 32,0	50,63 ± 7,01	75,95 ± 10,35	P _{I-II} >0,05 P _{I-III} >0,05 P _{II-III} <0,05
3	Фібриноген, мг/мл	2,20 ± 0,36	3,41 ± 0,14	4,15 ± 0,12	P _{I-II} <0,002 P _{I-III} <0,001 P _{II-III} <0,001
4	Протеїн С, %	100 ± 10,0	86,13 ± 3,05	80,05 ± 1,47	P _{I-II} >0,10 P _{I-III} <0,05 P _{II-III} >0,05

Виявлені низькі рівні Д-димеру на тлі зростання концентрації розчинного фібрину, особливо у групі без збереженої ЗФН, можливо трактувати як депресивний стан системи фібринолізу, продуктом якої являється Д-димер як показник післятромбозу. Необхідно зазначити, що концентрації фібриногену виявились достовірно підвищеними в обох групах порівняно з контролем у 1,5 та 2 рази відповідно ($p < 0,02 \div 0,001$). При цьому, рівень фібриногену у групі хворих без збереженої ЗФН достовірно перевищував такий у групі зі збереженою ЗФН ($p < 0,001$). Показники ж активності природнього антикоагулянту – протеїну С у хворих зі збереженою ЗФН мали тенденцію до зниження, тоді як у групі пацієнтів без збереженої ЗФН вони знижувались достовірно ($p < 0,05$).

Оцінка кореляційних зв'язків розчинного фібрину з Д-димером, фібриногеном та протеїном С у групі без збереженої ЗФН виявила його пряму залежність з Д-димером ($r = 0,56$) при відсутності кореляції з фібриногеном ($r = 0,04$) та протеїном С ($r = -0,08$). У групі ж хворих зі збереженою ЗФН кореляційна залежність розчинного фібрину з Д-димером виявилась слабкою ($r = 0,29$), а з фібриногеном – помірною ($r = 0,34$) при практично відсутній

кореляції з протеїном С ($r = 0,16$). Останнє вкотре підкреслює неадекватність фібринолітичної та антикоагулянтної ланок гемостазу на зростання концентрації розчинного фібрину у хворих ХХН VД ст.

Враховуючи значне зростання рівня маркера передтромбозу – розчинного фібрину у плазмі крові, високу концентрацію фібриногену при відсутності відповідної співставної реакції з боку фібринолітичної ланки гемостазу та низьку антикоагулянтну активність у групі хворих без збереженої ЗФН, можна вважати їх групою з більш високим ризиком тромбогенезу порівняно з групою, у якої збережена ЗФН.

Таким чином, збережена ЗФН позитивно відбивається на показниках гемостазу, останнє частково можливо пояснити меншим негативним впливом ренін-ангіотензин-альдостеронової системи на процеси гіперкоагуляції за умов збереженої ЗФН. Збереження ж ЗФН у пацієнтів, які лікуються програмним гемодіалізом, має бути пріоритетним для підвищення їх виживання.

Рекомендації

Результати проведених нами досліджень та дані літератури свідчать, що коморбідність у даної категорії хворих не є мононозологічною і включає декілька захворювань та синдромів, а найбільш частими є синтропічні ушкодження, які належать до групи «ускладнених коморбідних захворювань». Якщо розглянути основні коморбідні стани у хворих, які отримують ниркозамісну терапію, то стане зрозумілим, що в підсумку більшість із них поєднані з системою гемостазу, порушення в якій призводить до важких наслідків, у тому числі і фатальних (інфаркт, інсульт, тромбемболії тощо). Доведено, що порушення системи гемостазу є одним із основних патологічних станів, які супроводжують ХХН. Так, відомо, що у хворих з нирковою недостатністю підвищується ризик виникнення венозних тромбемболій та смертність, а при прогресуючому процесі тромбемболізм трапляється удвічі частіше. Як свідчать отримані дані, можливість розвитку тромбофілій у хворих ХХН VД стадії досить висока. Вона обумовлена значною активацією системи згортання крові, на що вказують маркери тромбінемії (розчинний фібрин, фібриноген, згортаючий потенціал), та низькою активністю антикоагулянтної ланки гемостазу (протеїн С, фібринолітичний потенціал). На наш погляд, тромбофілії у даної категорії хворих є одними з ускладнених коморбідних станів. Так, всі розглянуті захворювання та синдроми у тій чи іншій мірі погіршують антикоагулянтну та фібринолітичну функцію організму; запальний процес і гіперпаратиреоз через посилення коагуляції пов'язаної зі зростанням концентрації розчинного фібрину, а гепатити через пригнічення синтезу протеїну С та подовження часу фібринолізу.

Проведення комплексної оцінки стану гемостазу у хворих з ХХН VД стадії ускладненої коморбідними захворюваннями необхідне для виявлення не тільки порушень балансу в системі про- та антикоагуляції, але й для індивідуального контролю ефективності призначеного лікування пацієнтів, що відповідають дуже високому тромботичному ризику.

Список використаних літературних джерел

1. Мельник АА Система гемостаза и ее регуляция при нарушении функциональной способности почек. Новости медицины и фармации в Украине. 2016;9(583):24–31.
2. Платонова ТН, Заичко НВ, Чернышенко ТМ, Горницкая ОВ, Грищук ВИ. Оценка информативности и прогностической значимости традиционных скрининговых и дополнительных лабораторных тестов для диагностики тромбофилии. Лаб діагностика. 2010;4(54):3–10.
3. Рубленко АМ, Урвант ЛП, Макогоненко ЄМ, Платонова ТМ, Цап ПЮ, Чернишенко ТМ та ін. Вплив активатора протеїну С на загальний гемостатичний потенціал плазми крові за ендопротезування тазостегнового суглоба. Укр біохім журнал. 2011;5(83):32–8.
4. Pyrogoва LV, Chernyshenko TM, Kolesnikova IN, Platonova TN, Bereznitsky GK, Makogonenko YM et al. Level of overall haemostasis potential in donor and patient plasma in pathology. Ukr Biochem J. 2016;88(2):56–75.
5. Шевчук СВ, Горницька ОВ, Чернишенко ТМ, Краснобрижа ЄМ, Корольова ДС, Чернишенко ВО та ін. Комплексна діагностика тромбофілії за системного червоного вовчака. Лаб діагностика. 2010;1:3–8.
6. Mossesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. Fibrinogen and fibrin polymerization: appraisal of the binding events that accompany fibrin generation and fibrin clot assembly. Fibrinogen XVI th in t. fibrinogen workshop. New York. 2001, 11 – 30.
7. Scandura JM, Walsh PN. Factor X bound to the surface of activated human platelets is preferentially activated by platelet-bound factor IXa. Biochemistry. 1996;35(27):8903–13.
8. Амосова Е.Н. Руководство по тромболитической терапии. Киев.: IT- studio; 1998. 168 с.
9. He S, Wallen H, Bark N, Blomback M. In vitro studies using a global haemostasis assay to examine the anticoagulation effects in plasma by the direct thrombin inhibitors: dabigatran and argatroban. J of thrombosis and thrombolysis. 2013;35(2):131–9.

10. Medved L, Nieuwenhuizen W. Molecular mechanisms of initiation of fibrinolysis by fibrin. *Thromb Haemost.* 2003;89(3):409–19.

11. Суворова ТС, Тов НЛ, Мовчан ЕА. Состояние сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза при хроническом тубулоинтерстициальном нефрите. *Терапевт арх.* 2007;79(6):56–60.

12. Monreal M. Venous thromboembolism in patient with renal insufficiency: findings from the RIETE-Registry. *Am J Med.* 2006;119:1073–79.

13. Molino D, de Lucia D, Caspare de Santo N. Coagulation disorders in uremia. *Semin Nephrol.* 2006;26:46–51.

14. Шифріс ІМ, Дудар ІО. Коморбідність та виживання хворих на хронічну хворобу нирок V D стадії. *Укр журнал нефрології та діалізу.* 2015;4(48):30–9.

15. Гуцаленко ОО, Кострікова ЮА, Сало ЛМ, Манойло ОВ, Фалько ВП. Поліморбідність як міждисциплінарна проблема. *Світ медицини та біології.* 2010;2:10–3.

16. Лесовой ВН, Андоньева НМ, Гуц ЕА, Дубовик МЯ, Грушка МА, Лісова ГВ. Синдром коморбидности у пациентов на почечнозаместительной терапии. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. Урологія, андрологія, нефрологія.* 2013 трав 30–31; Харків. 2013, 135 – 7.

17. Шифріс ІМ. Коморбідність у хворих на хронічну хворобу нирок VD стадії. *Актуальні проблеми нефрології.* 2015;21:94–101.

18. Jiannong L. An improved comorbidity index for outcome analyses among dialysis patients. *Kidney international.* 2010;77:141–151.

19. Rattanasompattikul M. Charlson comorbidity score is a strong predictor of mortality in haemodialysis patients. *Int Urol Nephrol.* 2012;44(6):1813–23.

20. Jager KJ, Lindholm B, Goldsmith D, Fliser D, Wiecek A, Suleymanlar G, et al. Cardiovascular and non- cardiovascular mortality in dialysis patients : where is the link ? *Kidney Int Sup.* 2011;1:21–3.

21. Дудар ІО, Дріянська ВС, Савчук ВМ, Лобода ОМ, Гончар ЮІ, Шіфріс ІМ та ін. Хронічне запалення та анемія у хворих на ХХН VD стадії. *Укр журнал нефрології та діалізу.* 2017;3(55):84–5.

22. Лесовой ВН, Андоньева НМ, Волковская ТЛ. Влияние вторичного гиперпаратиреоза на кальцификацию клапанов сердца у больных с хронической болезнью почек VD стадии. Укр журнал нефрології та діалізу. 2017;3(55):76–80.
23. Земченков АЮ, Герасимчук РП, Сабодаш АБ, Вишневский ЛА, Конакова ИН, Кулаева НН и др..Анемия у пациентов с ХБН 5: актуальные тренды в мире и картина в Санкт-Петербурге. Нефрология и диализ. 2017;19(3):371–81.
24. Земченков АЮ, Герасимчук РП. Сосудистая кальцификация и активаторы рецепторов витамина Д. Обзор. Нефрология и диализ. 2009;11(4):276–92.
25. Колесник МО, Законь КМ. Кардіо-ренальний синдром: Новий підхід до старої проблеми. Укр журнал нефрології та діалізу. 2009;4(24):24–31.
26. Nasri H, Baradaran A, Naderi AS. A close association between parathyroid hormone and left ventricular function and structure in end-stage renal failure patients under maintenance haemodialysis. Acta Medica Austriaca. 2004;31(3):67–72.
27. Карлович НВ. Нарушение функции паращитовидных желез и состояние фосфорно-кальциевого обмена у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек. Медицинский ж-л; рецензируемый научно-практический ж-л учред. Белорусский государственный медицинский университет. 2009;2:58–62.
28. Horl WH. Secondary hyperparathyroidism: present and future therapeutic implication. Nephrol Dial Transplant. 2002;17(5):732–3.
29. Adragao T, Pires A, Lukas C, Birne R, Magalhaes L, Goncalves M, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis. Nephrol Dial Transplant. 2004;19(6):1480–88.
30. Волгина ГВ, Селезнев ДС, Балкарова ОВ, Ловчинский ЕВ. Внекостная кальцификация у пациентов с хронической болезнью почек. Врач. 2012, 7; 2-8.
31. Boldini V, Moistrospasgua M, Francucci CM, D'Erasmus E. Cardiovascular disease and osteoporosis. J Endocrinol Invest. 2005;28(10):69–72.
32. Ammon K. Media calcification and intimal calcification are distinct entities in chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol. 2010;3(6):1566–604.
33. Mehrotra R, Supasyndh O, Berman N, Kaysen G, Hurst L, Leonardi M, et al. Age-related decline in serum parathyroid hormone in maintenance haemodialysis

patients is independent of inflammation and dietary nutrient intake. *J Ren Nutr.* – 2004;14(3):134–42.

34. Okuno S. Extra skeletal actions of parathyroid hormone in haemodialysis patients. *Clin Calcium.* 2004;14(1):27–31.

35. Toh CH, Dennis M. Disseminated intravascular coagulation: old disease new hope. *BMJ.* 2003;327:974–7.

36. Tetta C, Camussi G, Turello E, Solomone M, Aimo G, Priolo G, et al. Production of cytokines in haemodialysis. *Blood Purif.* 1998. 6; 337 – 46.

Сторожук Ларина Олександрівна
Платонова Тетяна Миколаївна
Сторожук Борис Григорович
Селезньова Ірина Борисівна
Сторожук Олексій Борисович
Довгалюк Тетяна Вікторівна

**Оцінка про- та антикоагулянтних факторів гемостазу
і параметрів згортаючого потенціалу при розвитку
коморбідних станів у хворих на ХХН VД стадії**

Методичні рекомендації

Відповідальний редактор Тетяна Довгалюк
Художній дизайн Надія Іваниця

*Здано до складання 20.05.2019 р.
Підписано до друку 22.05.2019 р.
Формат 60x84/16 Папір офсетний.
Гарнітура Times New Roman. Друк офсетний.
Умовн. друк. арк.. 14.4
Тираж 100 прим.
Замовлення № 112*

*Видавець ФОП Рогальська І. О.
м. Вінниця, Хмельницьке шосе, 145
тел.: (0432) 43-51-39, 65-80-80
E-mail: dilo_vd@ukr.net
Свідоцтво ДК №3990 від 01.11.2010 р.*

*Виготовлювач ФОП Данилюк В. Г.
м. Вінниця, Хмельницьке шосе, 145
тел.: (0432) 43-51-39, 65-80-80
E-mail: dilo_vd@ukr.net
Свідоцтво ВОЗ №635744 від 01.03.2010 р.*